Khái niệm về di truyền và biểu hiện gene
Khái niệm về kiểm soát thượng di truyền

Âu Nhựt Luân

Mục tiêu bài giảng

Sau khi học xong, sinh viên có khả năng:

1. Trình bày được các khái niệm liên quan đến bộ gene và biểu hiện gene.
2. Trình bày được các khái niệm liên quan đến cơ chế kiểm soát thượng di truyền.

DEOXYRIBONUCLEIC ACID (DNA)

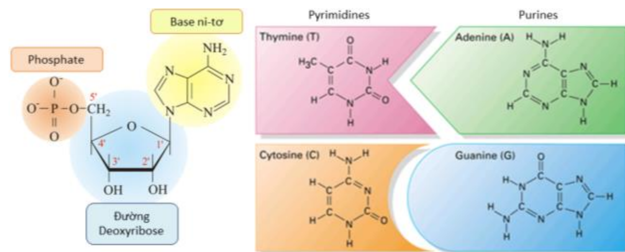
Nucleotide là đơn vị cấu trúc cơ bản của phân tử DNA.

DNA là phân tử lưu giữ mật mã di truyền của cơ thể sống.

DNA là một polymer, với đơn vị là nucleotide.

Cấu tạo của mỗi nucleotide gồm một phân tử đường deoxyribose, một gốc phosphate và một base ni-tơ.

Trong phân tử DNA, base ni-tơ có thể là một purines (vòng kép) hay là một pirimidines (vòng đơn). Có hai loại purines: Adenine (A) và Guanine (G). Có hai loại pirimidines: Thymine (T) và Cytosine (C). Các nucleotide được gọi tên theo loại base ni-tơ của nó.



Hình 1: Cấu tạo của một nucleotide và các base ni-tơ
Mỗi nucleotide gồm một deoxyribose, gắn với một gốc phosphate ở vị trí 5', và với một base ni-tơ.
Bên phải của hình là cấu tạo các base ni-tơ.
Nguồn: glossary.periodni.com

Chuỗi đơn DNA là một khung phosphate-đường. Base ni-tơ được gắn vào deoxyribose của khung phosphate-đường.

Chuỗi đơn polymer DNA được hình thành do liên kết giữa đường deoxyribose của nucleotide xếp trước và phosphate của nucleotide xếp sau.

Liên kết kiểu nối đuôi phosphate-đường tạo ra khung đỡ phosphate-đường của chuỗi đơn polymer DNA. Khung này bắt đầu từ phosphate của nucleotide đầu tiên (qui ước gọi là đầu 5') và kết thúc ở deoxyribose của nucleotide cuối cùng (qui ước gọi là đầu 3').

Base ni-tơ được gắn vào deoxyribose của khung phosphate-đường.

DNA mã hóa các protein. Trình tự nucleotide trên DNA qui định trình tự amino acid của protein mà DNA này chi phối. Mã di truyền cho sinh tổng hợp protein được lưu trữ theo từng codon 3 nucleotide.

Trình tự các nucleotide trên chuỗi DNA rất nghiêm ngặt, là mật mã của toàn bộ đặc điểm di truyền của cơ thể sống.

Một số đoạn của DNA mang mã dành cho sinh tổng hợp protein. Tại các đoạn DNA này, mật mã di truyền được lưu trữ theo từng codon. Mỗi codon gồm 3 nucleotide liên tiếp nhau. Không có khoảng cách giữa các codon. Các codon không chồng lấn lên nhau. Mỗi codon mã hóa một amino acid. Một chuỗi xác định các codon trên DNA mã hóa một trình tự xác định của amino acid trong protein tương ứng.

Do có 4 base ni-tơ, và do một codon tạo bởi 3 base ni-tơ, nên ta có tất cả 64 kiểu trình tự nucleotide của một codon.

3 kiểu codon được dùng như là mã kết thúc. 61 kiểu codon còn lại dùng để mã hóa 20 amino acid.

Các đoạn DNA mã hóa protein được đánh dấu bằng các đoạn mã khởi đầu[1], các đoạn mã ngăn cách[2], và mã kết thúc. Các đoạn này có trình tự nucleotide đặc biệt, và thường có tính lặp lại.

Trên DNA còn có các đoạn không mã hóa protein. Các đoạn DNA không mã hóa protein này đảm nhận các chức năng kiểm soát các tiến trình tế bào.

Rất nhiều vùng trên DNA không lưu giữ mật mã qui định trình tự amino acid của protein, được gọi là các đoạn DNA không mã hóa protein.

Các đoạn DNA không mã hóa protein này đảm nhận vai trò làm mã nguồn cho việc phiên mã tổng hợp rất nhiều loại RNA với chức năng khác nhau trong kiểm soát hoạt động tế bào[3].

Phân tử DNA hoàn chỉnh có cấu tạo chuỗi xoắn kép được tạo từ hai chuỗi đơn 5'3' và 3'5'. Hai chuỗi đơn DNA có cấu tạo "soi gương".

Phân chia tế bào để tạo ra tế bào mới là hoạt động cơ bản của sự sống. Trong tế bào mới buộc có đủ tất cả các mật mã di truyền của tế bào nguồn. Mật mã di truyền chứa trong DNA phải được sao chép sang tế bào mới.

Cơ chế của sao chép dựa trên nguyên lý là mỗi purines chỉ bắt cặp với một pirimidines cố định, bằng liên kết hydro,

[1] Các promoter, enhancer, hộp TATA, hộp CCAAT, điểm khởi đầu chuyển mã, đoạn 5' UTR, codon khởi đầu AUG. Sẽ được trình bày chi tiết ở phần sau.

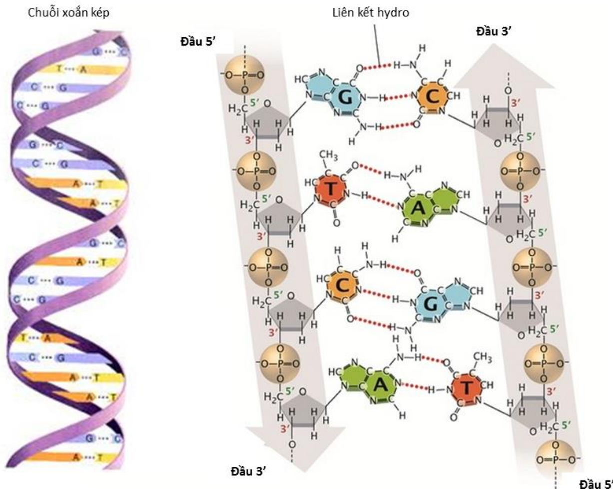
[2] Các đoạn DNA với trình tự nucleotide lặp lại (intron) phân cách các đoạn DNA mã hóa protein. Sẽ được trình bày chi tiết ở phần sau.

[3] Có rất nhiều ncRNA: Xist, miRNA, tRNA… Sẽ được trình bày chi tiết ở phần sau.

tạo thành hai cặp cố định là A-T (hoặc T-A) và G-C (hoặc C-G). Giữa adenine và thymine là 2 liên kết hydro. Giữa cytosine và guanine là 3 liên kết hydro.

Các liên kết hydro giữa A với T và giữa C với G gắn hai chuỗi đơn DNA với nhau để tạo ra chuỗi xoắn kép DNA.

Trình tự nucleotide trên chuỗi đơn DNA này qui định trình tự nucleotide trên chuỗi đơn DNA còn lại. Nói cách khác, hai chuỗi đơn DNA là hai chuỗi "soi gương" của nhau.



Hình 2: Cấu tạo chuỗi xoắn kép của DNA
Bên trái của hình là chuỗi xoắn kép DNA. Bên trái của hình trình bày chi tiết cấu tạo của chuỗi xoắn kép.
Liên kết kiểu nối đuôi phosphate-đường tạo ra khung đỡ phosphate-đường của chuỗi đơn DNA. Base ni-tơ được gắn vào deoxyribose của khung này. Chuỗi xoắn kép DNA gồm hai chuỗi: chuỗi 5'3' (chuỗi ở bên trái của hình vẽ) và chuỗi 3'5' (chuỗi ở bên phải của hình vẽ).
Trình tự base ni-tơ của chuỗi 3'5' phản ánh trình tự base ni-tơ của chuỗi 5'3', base A chỉ bắt cặp với base T và base C chỉ bắt cặp với base G.
Nguồn: National Human Genome Research Institute (NHGRI)

Dù chỉ cần một chuỗi DNA là đủ để lưu giữ mật mã di truyền, nhưng việc chỉ có một chuỗi DNA duy nhất sẽ gây khó khăn cho sao chép mật mã di truyền được lưu giữ.

Tiến trình tổng hợp chuỗi DNA từ bản gốc 5'3' không tạo ra được chuỗi 5'3', mà chỉ tạo ra được bản "soi gương" của nó là chuỗi 3'5'. Mật mã lưu giữ trên chuỗi 3'5' mới tạo ra là mật mã ngược với mật mã trên chuỗi 5'3'.

Tương tự, tiến trình tổng hợp chuỗi DNA từ bản gốc 3'5' không tạo ra được chuỗi 3'5', mà chỉ tạo ra được bản "soi gương" của nó là chuỗi 5'3'. Mật mã lưu giữ trên chuỗi 5'3' là mật mã ngược với mật mã trên 3'5'.

Cấu trúc chuỗi kép của DNA giải quyết hoàn hảo vấn đề "soi gương" này.

Khi tế bào nhân đôi, 2 chuỗi của DNA gốc sẽ tách ra.

Chuỗi 5'3' gốc được dùng làm bản gốc cho chuỗi 3'5' mới, tạo ra chuỗi kép DNA mới thứ nhất giống hệt DNA cũ, mang chuỗi đơn 5'3' gốc. Sao chép trên bản gốc 5'3' cần đến enzyme DNA polymerase.

Chuỗi 3'5' gốc được dùng làm bản gốc cho chuỗi 5'3' mới, tạo ra chuỗi kép DNA mới thứ nhì giống hệt DNA cũ, mang chuỗi đơn 3'5' gốc. Sao chép trên bản gốc 3'5' cũng cần đến enzyme DNA polymerase nhưng tiến trình có phức tạp hơn, do DNA polymerase không trực tiếp đọc được chuỗi 3'5'.

DNA mới được tạo bằng 2 chuỗi soi gương 5'3' và 3'5'. Các cầu liên kết hydro giữa các base ni-tơ trong một cặp sẽ gắn hai chuỗi đơn DNA mới tổng hợp với nhau, tạo ra chuỗi xoắn kép.

DNA ở dạng chuỗi kép không thể hoạt động. Khi cần đến hoạt động của DNA, các cầu hydro giữa hai chuỗi sẽ tách ra ở các vị trí cần thiết, để các chuỗi đơn DNA bắt đầu hoạt động làm khuôn mẫu cho tổng hợp RNA.

Trong tế bào, DNA hiện diện trong nhiễm sắc thể ở nhân tế bào và chất nhiễm sắc ty thể.

Mật mã di truyền qui định bởi DNA trong nhân tạo ra di truyền nhân. Cá thể thừa hưởng mật mã di truyền nhân từ DNA có nguồn gốc từ cả cha và mẹ.

Mật mã di truyền qui định bởi DNA ty thể tạo ra di truyền ty thể, hay là di truyền ngoài nhân. Di truyền ngoài nhân chỉ có nguồn gốc duy nhất từ tế bào chất của noãn bào.

Gene là gene là một đoạn của DNA, với một trình tự nucleotide xác định, được xem là đơn vị phân tử của di truyền tính trạng.

Tên của gene được qui định viết bằng chữ in nghiêng.

Về mặt cấu tạo, gene là một đoạn (locus) của DNA, với trình tự nucleotide xác định. Cấu tạo gene của mỗi cá thể tạo ra kiểu gene (genotype). Gene được sao chép nguyên vẹn trong quá trình truyền từ thế hệ trước sang thế hệ sau.

Tiến trình sao chép khi truyền sang thế hệ sau có thể bị lệch lạc, làm trình tự nucleotide bị thay đổi. Biến đổi này được gọi là đột biến gene (gene mutation). Đột biến gene tạo ra tính đa hình gene (polymorphism).

Kiểu hình lệ thuộc vào kiểu gene và chịu sự kiểm soát của các biến đổi thượng di truyền.

Gene qui định tính trạng. Khi tính trạng qui định bởi gene được biểu hiện ra ngoài, ta có kiểu hình (phenotype).

Tuy nhiên, kiểu hình không chỉ lệ thuộc vào trình tự nucleotide của gene. Rất nhiều yếu tố khác ảnh hưởng đến quá trình biểu hiện của gene (gene expression).

Các yếu tố bên ngoài có khả năng chi phối tiến trình tắt-mở của các gene, quyết định các gene này có được biểu hiện hay không. Chúng được gọi là các yếu tố thượng di truyền.

Các gene có thể được điều hòa lên (up-regulated) hay điều hòa xuống (down-regulated). Gene được mở bằng tiến trình kiểm soát thượng di truyền gọi là gene được điều hòa lên. Gene bị đóng bằng tiến trình kiểm soát thượng di truyền gọi là gene được điều hòa xuống.

DNA được gắn vào histone, tạo ra các nucleosome.

Mỗi tế bào đều mang toàn bộ vốn DNA của cá thể. Tổng chiều dài của toàn bộ số DNA trong mỗi tế bào lên đến 1.8 mét. Tuy nhiên, mỗi tế bào chỉ khai thác một lượng rất hạn chế thông tin có trong cơ sở dữ liệu DNA của nó.

Vì thế, DNA phải được "đóng gói" để được cất giữ một cách "gọn gàng". Tế bào chỉ truy cập và truy xuất những thông tin cần thiết cho nó mà thôi.

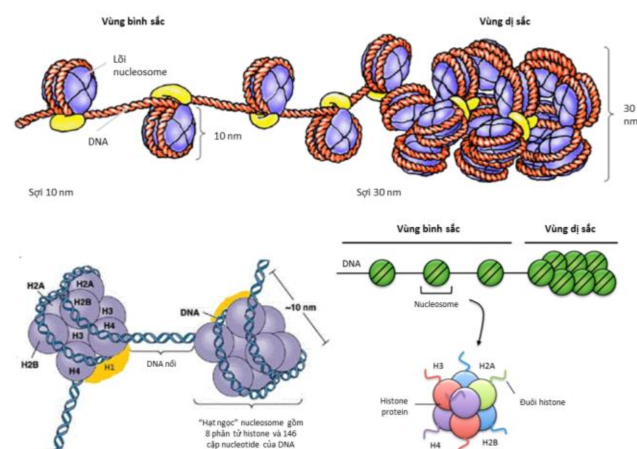
Để thực hiện được điều này, phải có cơ chế lưu trữ, đồng thời là các cơ chế tắt-mở các cơ sở dữ liệu của DNA. Histone là một protein đảm nhận việc này.

Histone là một protein octamere, gồm 8 tiểu đơn vị, có vai trò của một giàn giáo mà trên đó DNA được gắn vào.

146 cặp base ni-tơ sẽ được "quấn" quanh mỗi octamere của histone, tạo ra một nucleosome.

Các nucleosome được cách nhau bởi các đoạn DNA nối. Các nucleosome được gắn với nhau, một cách có cấu trúc, để tồn trữ. Trong quá trình phân bào, nhiễm sắc chất co cụm lại và được nhìn thấy ở dạng nhiễm sắc thể.

Khi đang ở trạng thái được cất giữ trong các nucleosome, cơ sở dữ liệu cất giữ trong các DNA sẽ ở dạng không sẵn sàng để truy cập. Muốn có biểu hiện gene, phải truy cập được vào đoạn DNA tương ứng với gene đó.



Hình 3: DNA được gắn vào histone, tạo ra các nucleosome
Mỗi nucleosome gồm một lõi 8 histone (tím) quấn quanh bởi một đoạn DNA dài 146 cặp base ni-tơ.
Histone H1 (vàng) cố định cấu trúc nucleosome, và kết chúng bó chặt với nhau trong các vùng dị sắc.
Lưu ý đến các đuôi histone. Chúng có vai trò quan trọng trong việc bật tắt các đoạn mã DNA.
Nguồn: carolguze.com (trên) slideshare.net (dưới trái) và frontiersin.org (dưới phải)

Điều hòa biểu hiện gene được thực hiện thông qua các biến đổi của histone.

Bất thường của acetyl hóa hay khử acethyl của histone có thể gây ra các thay đổi thượng di truyền.

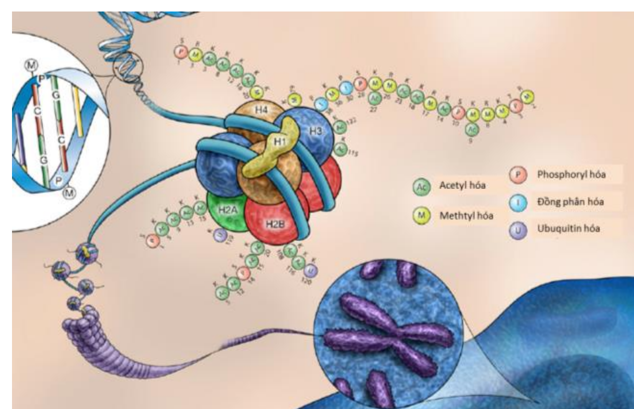
Histone đóng vai trò quan trọng trong biểu hiện gene.

Histone trong nucleosome có các đuôi thò ra ngoài. Các đuôi histone này là nơi xảy ra các quá trình acetyl hóa hay khử acetyl.

Tiến trình acetyl hóa hay khử acetyl của histone là một khâu then chốt trong biểu hiện gene.

Histone được acetyl hóa là một trong các điều kiện để có biểu hiện gene. Khi histone được acetyl hóa, gene sẽ được mở. Khi histone bị khử acetyl, gene sẽ bị đóng.

Lệch lạc trong kiểm soát acetyl hóa hay khử acetyl có thể dẫn đến việc các gene bị điều hòa lên hay xuống một cách bất thường, dẫn đến các biến đổi thượng di truyền.



Hình 4: Các đuôi acetyl hóa , methyl hóa, phosphoryl hóa của histone
Tác động trên các đuôi này có ý nghĩa quan trọng trong tiến trình biểu hiện gene. Các gene có thể bị khóa hay bị mở bất thường khi tiến trình acetyl hóa-khử acetyl bị hỗn loạn, tạo ra các biến đổi thượng di truyền.
Nguồn: Mojgan Rastegar. Annals of Anatomy192 (2010) 261–274

Rất nhiều gene được đánh dấu điểm khởi đầu bằng tiền tố (promoter) là hộp TATA và hộp CCAAT.

Rất nhiều gene có điểm khởi đầu được đánh dấu bằng hộp TATA. Hộp TATA là một đoạn DNA ngắn, giàu A và T, có độ dài khoảng 25-30 cặp base (bp), có vị trí ở ngay phía trước điểm bắt đầu của gene[4].

Liền kề với hộp TATA, về phía trước, là hộp CCAAT. Hộp CCAAT cũng là hộp đánh dấu khởi đầu của gene. Hộp CCAAT cũng là một đoạn DNA ngắn, có kích thước ngắn hơn hộp TATA.

Đột biến trên hộp TATA và hộp CCAAT có thể gây các bệnh lý di truyền liên quan đến gene mà chúng kiểm soát.

Đột biến ở các hộp TATA hay CCAAT sẽ ngăn cản việc chuyển mã RNA của gene đi sau các hộp này, và như vậy, sẽ ảnh hưởng đến tiến trình sinh tổng hợp protein.

Một ví dụ về đột biến ở hộp TATA gây mất khả năng tổng hợp protein tương ứng là bệnh β-Thalassemia.

Tuy nhiên, một số gene có điểm khởi đầu không phải là hộp TATA hay hộp CCAAT. Chúng được khởi đầu bằng các đảo CpG.

Các đảo CpG là nơi mà gene chịu kiểm soát của các yếu tố thượng di truyền.

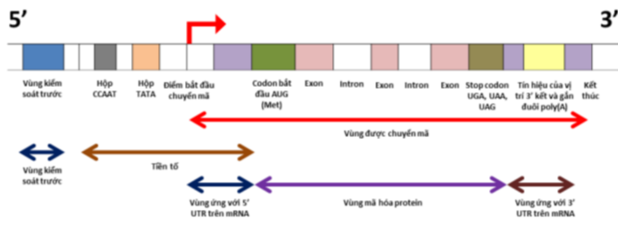
Khi khảo sát trình tự nucleotide, người ta chú ý đến sự hiện diện cận kề nhau của hai loại nucleotide C và G [5].

Điểm khởi đầu của các gene này có một mật độ cao của dinucleotide 5'-CpG-3'. Vùng hiện diện CpG với mật độ cao gọi là đảo CpG.

---

[4] 5' UTR

[5] Lưu ý không được nhầm lẫn. Thuật ngữ các CpG không đề cập đến cầu liên kết hydro giữa G và C thuộc hai chuỗi đơn DNA. Thuật ngữ này đề cập đến 2 nucleotide C và nằm liền kề nhau trên một chuỗi đơn DNA qua cầu phosphate.

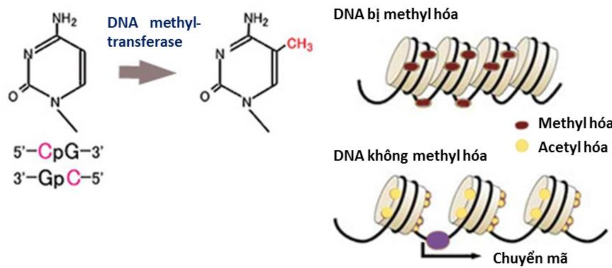


Hình 5: Cấu tạo của một gene. Sự phân bố vị trí của hộp CCAAT và hộp TATA so với gene "chính danh".
Trong gene, đoạn điều khiển xa nhất là các đoạn tăng (enhancer) hay tắt (silencer) gene. Gần hơn (với khoảng cách là -100 bp) là các thành tố gồm đảo CpG, hộp CCAAT. Ngay trước đoạn chứa mã ORF là hộp TATA (với khoảng cách là -25 bp).
Đột biến ở các hộp TATA hay CCAAT sẽ ảnh hưởng đến tiến trình điều hòa (tắt-mở) gene.
Nguồn: Bộ môn Phụ Sản, Đại học Y Dược TP.HCM

> Đảo CpG là đích nhắm của hiện tượng methyl hóa DNA.
>
> Bất thường của methyl hóa hay khử methyl ở đảo CpG có thể gây ra các biến đổi thượng di truyền.

Trên chuỗi đơn DNA, khi base Cytosine chiếm vị trí liền kề với base Guanine (CpG), nó có thể bị methyl hóa. Đảo CpG là nơi tập trung với mật độ cao CpG. Vì thế, các đảo CpG là đích nhắm của hiện tượng methyl hóa DNA.

Khi Cytosine bị methyl hóa, gene sẽ bị đóng. Tình trạng methyl hóa quá đáng (hypermethylation) xảy ra ở các đảo CpG sẽ ngăn cản tiến trình chuyển mã của gene. Các bất thường của tiến trình methyl hóa-khử methyl của các đảo CpG gây ra các biến đổi trong việc đóng mở các gene, từ đó dẫn đến các biến đổi thượng di truyền.



Hình 6: Cơ chế kiểm soát thượng di truyền liên quan đến histone và methyl hóa các đảo CpG.
Acetyl hóa các histone là điều kiện quan trọng để các gene được mở.
Nhưng điều kiện đủ để cho các hiện tượng chuyển mã xảy ra là các đảo CpG phải được khử methyl. Thay đổi methyl hóa sẽ ảnh hưởng đến tiến trình mở của gene.
Nguồn: cellscience website

RIBONUCLEIC ACID (RNA)

> RNA là phân tử thực thi các nhiệm vụ chức năng bao gồm sinh tổng hợp và điều hòa gene.

Tuy là nơi lưu trữ mã di truyền, nhưng hoạt động sinh tổng hợp protein không thực hiện trực tiếp trên khuôn mẫu là DNA, mà phải thông qua một bản chuyển mã của DNA là RNA thông tin (mRNA).

Ngoài việc lưu trữ mật mã của protein, DNA còn đảm nhận các chức năng khác. Một điểm chung nhất là tất cả những hoạt động này đều thông qua các dạng RNA khác nhau. Như vậy có rất nhiều loại RNA chức năng.

> Các RNA cũng được tạo thành từ các nucleotide.

Tuy cũng được tạo thành từ các nucleotide, nhưng RNA rất khác DNA.

1. RNA có cấu tạo chuỗi đơn
2. RNA không có các nucleosome
3. Thành phần đường trong RNA là ribose
4. RNA không có Thymine. Thay cho T là Uracil (U).

> Các mã di truyền cất giữ trong DNA sẽ được phiên mã sang RNA.

Tiến trình chuyển mã DNA thành mã RNA (transcript) được thực hiện cùng nguyên lý như sao mã DNA, với sự tham gia của RNA polymerase. Tuy nhiên khi nucleotide trên mã DNA gốc là A, thì nucleotide tương ứng trên RNA sẽ là U, thay vì T.

GENOME, CHUYỂN MÃ VÀ DỊCH MÃ

> Toàn bộ DNA của một tế bào tạo ra bộ gene (genome).

Bộ gene gồm rất nhiều gene, được lưu trữ trên DNA.

Tuy nhiên, không phải bất cứ đoạn DNA nào cũng chứa mật mã di truyền. Trình tự các nucleotide sẽ cho biết đoạn DNA nào có chứa mã di truyền.

> Các đoạn DNA với trình tự lặp lại là các đoạn DNA không mang mật mã di truyền (intron).

Không phải tất cả các DNA đều mã hóa protein.

Các đoạn DNA với trình tự lặp lại là các đoạn DNA không mang mật mã di truyền (intron). Các intron đảm nhận việc ngăn cách các đoạn DNA có trình tự không lặp lại.

> Các đoạn DNA mang mật mã di truyền được gọi là exon.

Các đoạn DNA mang mật mã di truyền, có trình tự nucleotide không lặp lại, qui định tính trạng, thông qua sinh tổng hợp protein được gọi là exon. Một gene thường được cấu tạo từ nhiều exon. Các exon thường được ngăn cách với nhau bằng các đoạn không mang mật mã di truyền, gọi là intron.

> Gene được cấu tạo từ các intron và exon.

Tuyệt đại đa số các gene ở tế bào có nhân của sinh vật cấp cao đều đều được cấu tạo bằng nhiều exon, ngăn cách nhau bởi các intron.

> Có hai loại gene khác nhau: một loại mã hóa một protein chức năng, và một loại khác không mã hóa protein.

Gene mã hóa protein chức năng sẽ được chuyển mã sang RNA thông tin (mRNA). Tiến trình này được gọi là chuyển mã RNA (transcript).

mRNA này sẽ thực hiện sinh tổng hợp protein tương ứng với gene đó. Tiến trình này được gọi là dịch mã RNA (translate).

Một protein được mã hóa bằng một bộ các exon theo trình tự xác định.

Mỗi amino acid được mã hóa bằng hơn một mã codon, Riêng chỉ có methionine chỉ được mã hóa bằng một mã codon duy nhất.

Có ba codon dừng là UAA, UAG và UGA.

Ký tự thứ nhì

Ký tự thứ nhất	U	C	A	G	Ký tự thứ ba
U	UUU, UUC } Phe UUA, UUG } Leu	UCU, UCC, UCA, UCG } Ser	UAU, UAC } Tyr UAA STOP UAG STOP	UGU, UGC } Cys UGA STOP UGG Trp	U C A G
C	CUU, CUC, CUA, CUG } Leu	CCU, CCC, CCA, CCG } Pro	CAU, CAC } His CAA, CAG } Gln	CGU, CGC, CGA, CGG } Arg	U C A G
A	AUU, AUC, AUA } Ile AUG Met	ACU, ACC, ACA, ACG } Thr	AAU, AAC } Asn AAA, AAG } Lys	AGU, AGC } Ser AGA, AGG } Arg	U C A G
G	GUU, GUC, GUA, GUG } Val	GCU, GCC, GCA, GCG } Ala	GAU, GAC } Asp GAA, GAG } Glu	GGT, GGC, GGA, GGG } Gly	U C A G

Ký hiệu amino acid

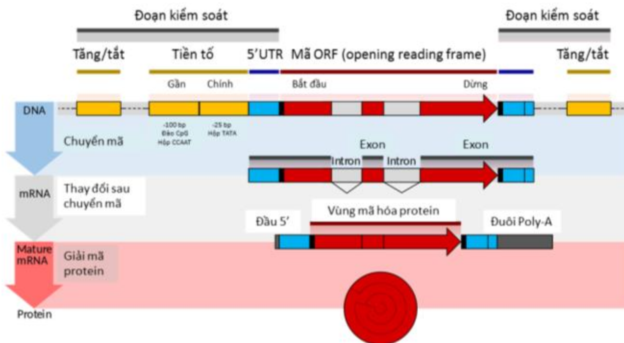
Ala = Alanine (A)
Arg = Arginine (R)
Asn = Asparagine (N)
Asp = Aspartate (D)
Cys = Cysteine (C)
Gln = Glutamine (Q)
Glu = Glutamate (E)
Gly = Glycine (G)
His = Histidine (H)
Ile = Isoleucine (I)
Leu = Leucine (L)
Lys = Lysine (K)
Met = Methionine (M)
Phe = Phenylalanine (F)
Pro = Proline (P)
Ser = Serine (S)
Thr = Threonine (T)
Trp = Tryptophan (W)
Tyr = Tyrosine (Y)
Val = Valine (V)

Hình 7: Bảng các codon trên mRNA.

Nguồn: Bioninja. http://www.vce.bioninja.com.au

Ở sinh vật cấp cao, hầu hết các gene đều được tạo bởi nhiều exon, ngăn cách bởi các intron. Trên một gene qui định một protein chuyên biệt, trình tự các exon và intron qui định trình tự của amino acid cấu thành nên protein đó.

Đầu tiên, việc sao mã sẽ chuyển mã DNA thành mã RNA nhân. RNA nhân này chưa phải là RNA sẵn sàng cho việc tổng hợp protein. RNA nhân bao gồm cả mã của các đoạn intron lẫn các exon.



Hình 8: Chuyển mã từ gene sang mRNA.
Tại nhân, DNA được chuyển mã thành mRNA nhân.
mRNA nhân là mRNA chưa sẵn sàng về chức năng, cần phải trải qua quá trình thay đổi sau chuyển mã, để cắt bỏ các đoạn intron.
Tiến trình thay đổi sau chuyển mã sẽ loại bỏ mã sao của các intron, tạo ra RNA trưởng thành (mature mRNA), tức RNA thông tin (mRNA).
mRNA là khuôn dùng trong tiến trình dịch mã, tức tổng hợp protein.

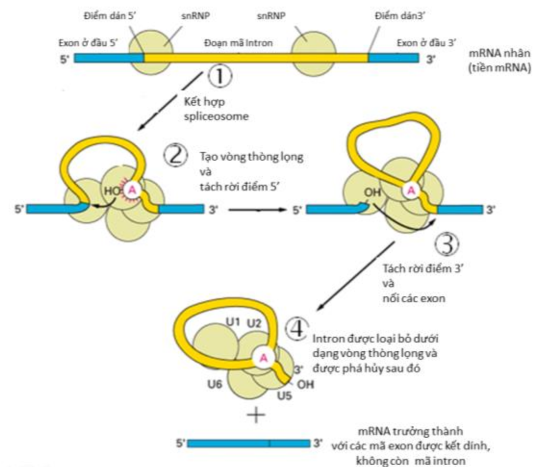
Nguồn: slideshare.net

Tiến trình chuyển mã RNA được nối tiếp bằng việc loại bỏ các intron trong bản sao RNA, tạo ra mRNA trưởng thành.

mRNA trưởng thành không còn chứa các đoạn intron, là khuôn mẫu cho tiến trình phiên mã tổng hợp protein.

Kế đó, từ bản sao RNA nhân, tế bào sẽ loại bỏ các đoạn mã intron, bằng tiến trình phân tách RNA, nhờ các cấu trúc chuyên cho cắt dán gọi là spliceosome.

Kết quả của việc cắt intron và dán exon của mRNA nhân là tạo ra mRNA trưởng thành không chứa intron, tức mã liên tục của protein. Protein sẽ được tổng hợp nhờ mRNA này.



Hình 9: Cắt dán trên mRNA nhân tạo mRNA trưởng thành
Tiến trình cắt dán được thực hiện bởi các spliceosome. Spliceosome loại bỏ các đoạn có cấu trúc lặp lại, tức không chứa thông tin di truyền.

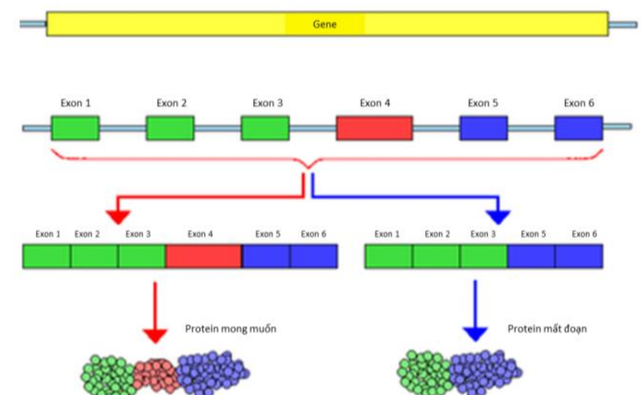
Nguồn: study.com

Khiếm khuyết trong quá trình sao mã và cắt dán RNA nhân có thể tạo ra bất thường trong protein.

Sau khi hoàn thành quá trình chuyển mã thành mRNA, đoạn mã của các intron sẽ được loại bỏ.

Nguyên tắc hoạt động của các spliceosome là loại bỏ các đoạn có cấu trúc lặp lại, tức không chứa thông tin di truyền.

Vì thế, khi một gene có quá nhiều exon (đồng nghĩa với có quá nhiều intron), hay các intron quá giống nhau thì sẽ dẫn đến các sai lạc trong quá trình cắt dán tạo ra mRNA cuối cùng, tức cắt một đoạn dài gồm hai intron có chứa một exon ở giữa, dẫn đến sự biến mất của một exon trong phân tử mRNA.



Hình 10: Sơ đồ giải thích khiếm khuyết protein do sai sót trong loại bỏ các đoạn mã intron
Intron sẽ được loại bỏ.
Tiến trình loại bỏ được thực hiện và gắn kết các đầu cùng của các exon với nhau.
Tiến trình này có thể bị sai lệch, dẫn đến việc loại bỏ hẳn một hay nhiều exon, gây ra khiếm khuyết protein.

Nguồn: Benoit Bely. https://fr.wikipedia.org

Đột biến điểm có thể gây ra tính đa hình đơn nucleotide (SNP) của protein.

Đột biến (thay đổi) trong một codon sẽ làm thay đổi amino acid tương ứng và làm thay đổi protein, tạo ra tính đa hình của một loại protein (Single Nucleotide Polymorphism), với hệ quả là thay đổi tính chất của protein.

Có thể lấy ví dụ là trường hợp của thụ thể với hormone FSH trên màng tế bào (rFSH). rFSH là một protein. Tại một vị trí của protein này có Serine.

Codon của Serine trên mRNA là U**C**U hoặc U**C**C (xem bảng). Đột biến xảy ra trên codon này thay C ở vị trí thứ nhì bằng A. Kết quả là ta có codon U**A**U hoặc U**A**C, là codon của Tyrosine.

Như vậy, đột biến này dẫn đến việc tạo ra một hình thái rFSH có cấu tạo khác, với Serine bị thay bằng Tyrosine.

rFSH với Tyr ở vị trí của Ser không đảm bảo được hoạt động bắt giữ FSH cho tế bào, ảnh hưởng nghiêm trọng đến chức năng của tế bào.

CÁC RNA KHÔNG MÃ HÓA PROTEIN (ncRNA)

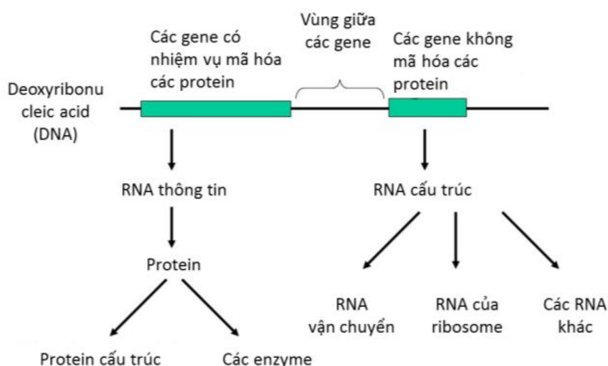
Các gene không mã hóa protein có vai trò quan trọng trong nhiều tiến trình điều hòa khác nhau.

Gene không mã hóa là một gene cũng được chuyển mã sang các RNA. Các RNA này được gọi chung là các RNA không mã hóa protein (non-coding RNA) (ncRNA) hay các RNA cấu trúc (structural).

Tuy các RNA này không có chức năng tham gia tổng hợp protein, nhưng chúng tham gia vào nhiều quá trình điều hòa khác nhau.

Có thể liệt kê một số nhóm RNA cấu trúc chính như:

1. Các RNA vận chuyển (tRNA) tham gia vào tiến trình vận chuyển các amino acid đến ribosome cho sinh tổng hợp protein
2. Các RNA tham gia vào tiến trình điều hòa gene
3. Các miRNA tức là RNA nhỏ, nhưng có vai trò quan trọng trong biểu hiện gene…



Hình 11: Phân loại các gene
Các gene được phân ra hai loại: (1) gene mã hóa protein và (2) gene không mã hóa protein.
Gene không mã hóa protein có nhiệm vụ đảm nhận tạo ra các RNA đa chức năng, tham gia vào tiến trình điều hòa gene như miRNA, Xist, tổng hợp telomerase…
Nguồn: slideplayer.com

RNA vận chuyển (tRNA) có nhiệm vụ vận chuyển amino acid đến ribosome trong quá trình sinh tổng hợp protein.

Trong quá trình sinh tổng hợp protein, có hai ncRNA tham gia: rRNA (ribosome RNA) và tRNA (transfer RNA).

Mỗi tRNA gồm có hai đầu, một đầu mang đối codon (anticodon), khớp với mã codon trên mRNA. Đầu còn lại của tRNA mang amino acid tương ứng với mã đối codon của nó.

Thoạt tiên, hai đơn vị của ribosome đến khớp với nhau ở đoạn mRNA có mã codon khởi đầu (AUG: methionine). Khi hai đơn vị của ribosome gắn với nhau, nó bao phủ một khu vực gồm 3 codon. Codon ở đầu 5’ là nơi tRNA thoát khỏi ribosome (vùng thoát). Codon ở đầu 3’ là nơi tRNA mang amino acid đến gắn vào (điểm đến). Codon ở giữa là nơi tRNA nhả amino acid ra để gắn với chuỗi polypeptid (điểm nhả).

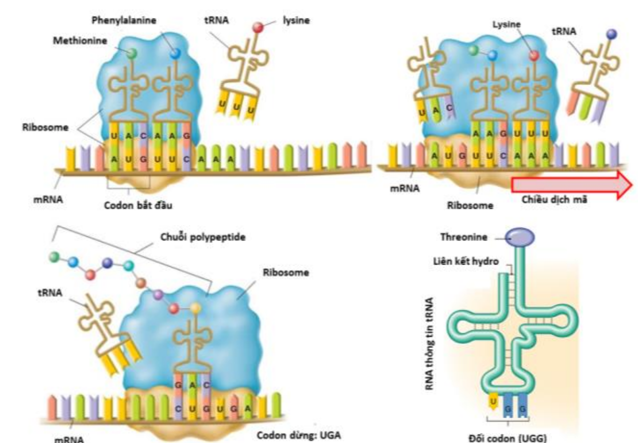
Sau khi ribosome được tổ hợp, tRNA mang methionine sẽ đến điểm đến.

Ribosome bắt đầu trượt trên mRNA theo từng bước, mỗi bước là một codon. Sau khi nó trượt bước đầu tiên, tRNA của methionine sẽ đến điểm nhả và nhả methionine ra. Trong khi đó một tRNA mang amino acid mới sẽ đến, có mã đối codon khớp với mã codon thứ nhì.

Ribosome trượt bước thứ nhì, tRNA của methionine sẽ đến vùng thoát, và thoát ly khỏi ribosome. tRNA thứ nhì sẽ đến điểm nhả và nhả amino acid để gắn với methionine. Lúc này, một tRNA thứ ba mang amino acid mới sẽ đến, có mã đối codon khớp với mã codon thứ ba.

Ribosome tiếp tục tiến theo chiều 5’ đến 3’. Chuỗi polypeptide dài dần.

Cuối cùng, khi ribosome tiến đến mã codon dừng (UAA, UGA, UAG), tức codon dừng rơi vào điểm đến. Lúc này, do không có tRNA nào mang mã đối codon là AUU, ACU hay AUC, nên sẽ không có tRNA nào gắn vào điểm đến. Ribosome trượt thêm một bước, và chuỗi polypeptide bị đứt ngang và dừng lại ở đó.



Hình 12: tRNA trong sinh tổng hợp protein
Ribosome bao phủ một khu vực gồm 3 codon.
Codon ở đầu 5’ là vùng thoát khỏi ribosome.
Codon ở đầu 3’ là điểm đến và tiếp nhận.
Codon giữa là nơi nhả amino acid.
Không có tRNA ứng với các codon dừng.
Nguồn: Jeremy Thornton. Slideplayer.com

Nếu trong một exon có một codon bị đột biến điểm và trở thành codon dừng thì chuỗi protein do gene chứa exon đó phụ trách sẽ bị đứt đoạn tại điểm dừng bất thường.

Có thể lấy hai ví dụ là β-Thalassemia.

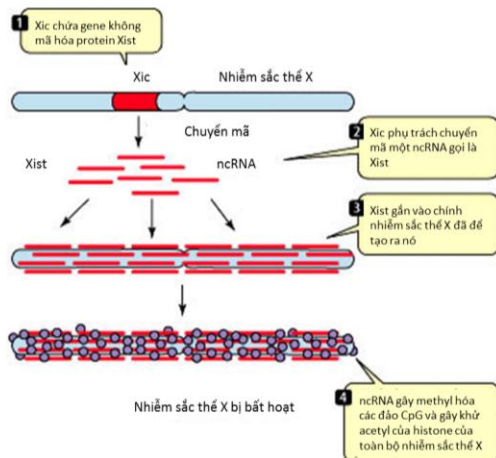
Ví dụ thứ nhất là một đột biến điểm, thay nucleotide này bằng một nucleotide khác. Ở người bình thường, chuỗi β-globin là một globin protein được tạo bởi 146 amino acid. Glutamine (mã codon CAG) là amino acid chiếm vị trí thứ 39 của chuỗi β-globin. Codon này có thể bị đột biến trở thành UAG, là một codon dừng. Chuỗi β-globin khi được tổng hợp đến vị trí này thì bị đứt đoạn. Ở người bị đột biến kiểu này, việc sinh tổng hợp thay vì cho ra một chuỗi polypeptide 146 amino acid có chức năng thì bây giờ chỉ tạo ra một chuỗi polypeptide 38 aminoacid không chức năng. Cơ thể không có chuỗi β-globin, tạo ra một bệnh lý rất nặng là β^0 Thalassemia.

Ví dụ thứ nhì là một đột biến mất nucleotide, làm xáo trộn chuỗi. Ở người bình thường, các codon 15-16-17-18-19 lần lượt là …^{15}UGG-GGC-AAG-GUG-AAC^{19}… tương ứng với đoạn polypeptide là …^{15}trp-gly-lys-val-asn^{19}… Đột biến mất một nucleotide G ở codon 16 sẽ làm thay đổi toàn bộ các codon còn lại. Đoạn này sẽ trở thành …^{15}UGG-GCA-AGG-UGA^{stop}, với chuỗi polypeptide chỉ có 17 amino acid, với 2 amino acid cuối cùng bị sai …^{15}trp-ala-arg^{stop}. Cơ thể cũng không có chuỗi β-globin, tạo ra một bệnh lý rất nặng là β^0 Thalassemia.

ncRNA tham gia vào kiểm soát hoạt động của gene.

ncRNA tham gia điều hòa hoạt động của gene, bằng cách tham gia vào cơ chế đóng mở của các gene. Kiểm soát gene thông qua ncRNA là một điển hình của các kiểm soát bằng cơ chế thượng di truyền.

Một ví dụ là trong trường hợp bất hoạt nhiễm sắc thể X. Trung tâm bất hoạt nhiễm sắc thể X (Xic) chuyển mã một ncRNA gọi là Xist (X-inactive specific transcript RNA). Xist phong tỏa hoạt động histone của nhiễm sắc thể X và methyl hóa các CpG trên nhiễm sắc thể X, dẫn đến bất hoạt một trong hai nhiễm sắc thể X.



Hình 13: ncRNA trong bất hoạt nhiễm sắc thể X

Xic nằm trên nhánh dài của nhiễm sắc thể X chứa gene không mã hóa protein chi phối một ncRNA là Xist. Tiến trình chuyển mã sẽ tạo ra Xist. Xist sẽ phong tỏa các gene thông qua khử acetyl của histone, đồng thời ngăn cản việc mở gene thông qua methyl hóa các đảo CpG.

Nguồn: Bài giảng Gene/Chromosome Inactivation. miami.edu

miRNA tham gia vào nhiều tiến trình điều hòa tế bào

miRNA là các RNA nhỏ, chỉ có chiều dài khoảng 20-25 nucleotide.

Các miRNA tham gia vào nhiều hoạt động như chết chương trình tế bào, sửa chữa mô tế bào, tân tạo mạch, phát triển tế bào…

Tiến trình tổng hợp miRNA bắt đầu bằng việc chuyển mã các miRNA sơ cấp từ các đoạn DNA không mã hóa protein.

Các miRNA sơ cấp này có cấu tạo "chuỗi giả kép" nhờ các liên kết hydro.

Enzyme Dimer cắt nhỏ miRNA sơ cấp thành các "khoanh" là các đoạn kép ngắn.

Một trong hai chuỗi của đoạn kép sẽ bị thoái giáng.

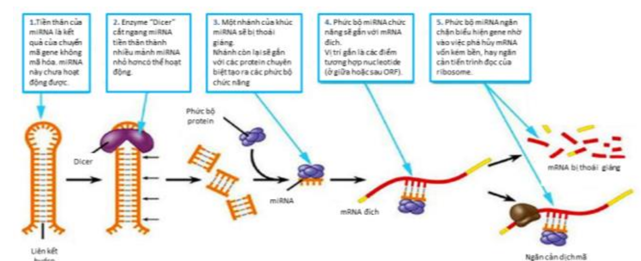
Đoạn miRNA đơn còn lại sẽ kết hợp với một protein tạo phức miRNA-protein. Phức bộ này đến gắn vào mRNA và tác dụng trên mRNA.

Vị trí gắn của miRNA vào mRNA là bất kỳ, miễn có sự tương hợp nucleotide. Hơn nữa, để gắn được với mRNA, không cần có sự tương hợp nucleotide hoàn toàn. Nói cách khác, miRNA có thể gắn vào mRNA theo kiểu từng đoạn ngắn.

Khi đã gắn vào mRNA, các miRNA tác dụng bằng cách chặn ngang tiến trình sinh tổng hợp protein khi ribosome đi đến các codon bị phong tỏa bởi miRNA.

miRNA cũng có thể gắn vào đoạn cuối của mRNA, trước đuôi Poly-A, và ngăn cản tiến trình sau dịch mã thành protein.

miRNA cũng có thể làm mRNA bị vỡ vụn và thoái giáng.



Hình 14: Cơ chế hoạt động kiểm soát biểu hiện gene của miRNA

miRNA chức năng phong tỏa mRNA ngăn cản tiến trình đọc mã trên ORF hoặc phá hủy mRA.

Nguồn: Godfrey Bbosa. Scientific research publishing Vol.5 No.10A(2013).

miRNA là các phân tử rất nhỏ, nhưng đóng vai trò rất lớn trong điều hòa tế bào, nhất là điều hòa sau dịch mã. Bất thường trong chuyển mã miRNA (theo cả hai chiều tăng hoặc giảm) cũng có thể dẫn đến bệnh lý.

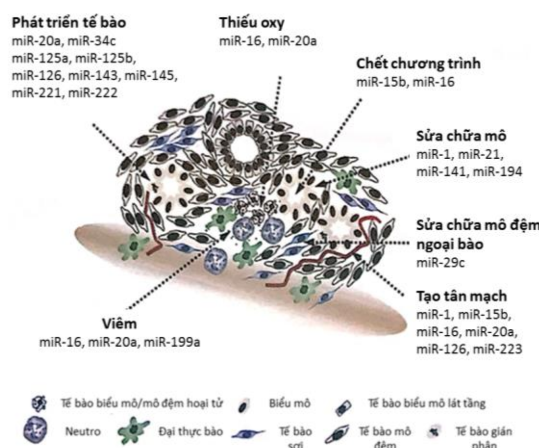
Khảo sát các miRNA mở ra nhiều hướng mới cho chẩn đoán và điều trị.

Khảo sát bất thường về chuyển mã miRNA cho phép dùng chúng như các chỉ báo sinh học (biomarkers) của bệnh lý muốn khảo sát.

Một ví dụ về bất thường chuyển mã miRNA dùng trong chẩn đoán là bệnh lý nội mạc tử cung lạc vị (endometriosis). Trong bệnh lý nội mạc tử cung lạc vị, sự hiện diện của nội mạc tử cung ở vị trí bất thường (phúc mạc, buồng trứng, trong lớp cơ tử cung…) sẽ kích thích

phản ứng miễn nhiễm của cơ thể nhằm loại trừ nó. Tuy nhiên đáp ứng miễn nhiễm loại trừ mô lạc vị đã không thành công do đáp ứng bất thường trong chuyển mã các miRNA. Bằng cách ngăn cản tiến trình đào thải miễn dịch bình thường, các miRNA được chuyển mã sẽ giúp tổ chức nội mạc tử cung tồn tại và phát triển ở vị trí lạc vị. Hoạt động chuyển mã bất thường của miRNA được kích hoạt bởi các yếu tố thượng di truyền kiểm soát các gene không mã hóa của miRNA tương ứng. Vì thế, một số miRNA có thể được dùng như một chỉ báo sinh học cho chẩn đoán bệnh lý nội mạc tử cung lạc vị[6].

Điều trị trúng đích dựa trên nền tảng miRNA là một ngành điều trị mới. Các đoạn nucleotide nhỏ chuyên biệt có thể được dùng với vai trò miRNA giả hay đối-miRNA (anti-miRNA), để khóa chặt hoạt động sinh tổng hợp protein trên các mRNA của bệnh lý tương ứng. Ngành ung thư đang rất kỳ vọng vào điều trị trúng đích dựa trên nền tảng miRNA này.



Hình 15: miRNA trong bệnh lý nội mạc tử cung lạc vị

Rất nhiều miRNA có thể được dùng như chỉ báo sinh học của bệnh lý này. Các miRNA này liên quan đến rất nhiều hoạt động kiểm soát thượng di truyền khác nhau.

Nguồn: Maria E. The role of microRNAs in endometriosis and associated reproductive conditions. Human Reproduction Update, Volume 16, Issue 2, 1 March 2010, Page 147

[6] miRNA-125 và miRNA-150 được điều hòa lên, trong khi đó miRNA-3613 được điều hòa xuống.

TÀI LIỆU ĐỌC THÊM

1. Thompson & Thompson Genetics in Medicine 8th edition. Tác giả Nussbaum. Nhà xuất bản Elsevier 2016.

TÀI LIỆU THAM KHẢO CHÍNH

1. Thompson & Thompson Genetics in Medicine 8th edition. Tác giả Nussbaum. Nhà xuất bản Elsevier 2016.
2. Kay Elder. In-vitro-Fertilization 3rd Ed. Nhà xuất bản Cambridge Medicine 2011